
УДК 615.322:582.681.81:581.44'45:543.422.3

ИЗУЧЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ ИВЫ ТРЕХТЫЧИНКОВОЙ (*SALIX TRIANDRA* L.), ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ НА СЕВЕРНОМ КАВКАЗЕ

Е.Г. Санникова, О.И. Попова, О.О. Фролова, А.Ю. Айрапетова

*Пятигорский медико-фармацевтический институт-филиал
ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск, Россия*

DETERMINATION OF FLAVONOIDS OF WILLOW TRIANDRA (*SALIX TRIANDRA* L.), GROWING IN THE NORTH CAUCASUS

E.G. Sannikova, O.I. Popova, O.O. Frolova, A.U. Airapetova

*Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute –
branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russia
E-mail: beegeeslover@mail.ru.*

Растения рода ива богаты наличием различных флавоноидов. Работами В.А. Компанцева в 60-е годы XX века показано, что в листьях ивы трехтычинковой, произрастающей на Северном Кавказе, содержится до 5% рутина. При этом использовался метод, требующий длительной пробоподготовки (извлечение из сырья, ТСХ, извлечение из хроматографического слоя метанолом, удаление растворителя, растворение в этаноле, измерение оптической плотности). В настоящее время описаны доступные и простые методы определения рутина в растительном сырье. Учитывая, что листья ивы трехтычинковой содержат значительные количества рутина и могут служить потенциальным сырьем для создания лекарственных средств на их основе, актуальным является определение суммы флавоноидов в листьях ивы трехтычинковой и ее побегах.

Целью исследования является определение суммы флавоноидов в иве трехтычинковой, произрастающей на Северном Кавказе в зависимости от места и времени сбора.

Методы. Для исследования использовались химические реакции, метод ТСХ

Plants of willow genus are rich in various flavonoids. In 60-e years of the XX century the works of V. A. Kompantsev showed that leaves of willow triandra, growing in the North Caucasus, contain up to 5% of rutin. The method, which required long sample preparation (extraction of the raw material with TLC, chromatographic layer extraction with methanol, removal of the solvent, dissolution in ethanol, optical density measurements) was used. Currently available and simple methods for the determination of rutin in plant material are described. Given that leaves of *Salix triandra* contain significant amounts of rutin and can be a potential raw material for the creation of medicines on their basis, it is essential to determine the amount of flavonoids in the leaves of *Salix triandra* and its branches.

The purpose of this study is determination of the amount of flavonoids in the willow triandra, growing in the North Caucasus, depending on the place and time of collection.

Methods. TLC and the method of

и метод дифференциальной спектрофотометрии.

Результаты. Присутствие флавоноидов в различных вегетативных органах растения было установлено с помощью качественных реакций (цианидиновая проба, борно-лимонная реакция, реакция со свинца ацетатом, с раствором аммиака). Методом ТСХ в присутствии стандартных образцов идентифицированы флавоноиды: рутин и кверцетин. Для количественного определения содержания суммы флавоноидов в объектах исследования была использована спектрофотометрическая методика на основе реакции образования комплексов с алюминия хлоридом. Показано, что наибольшее количество суммы флавоноидов накапливается в листьях (до 3,76%), в побегах - это значение немного меньше (до 3,26%). В побегах без листьев содержание флавоноидов почти в 10 раз меньше. Экспериментально установлено, что на накопление флавоноидов в сырье ивы трехтычинковой оказывает влияние место произрастания и время сбора сырья.

Заключение. Полученные результаты подтвердили полученные ранее сведения о том, что ива трехтычинковая содержит в основном рутин. Метод дифференциальной спектрофотометрии позволяет определять сумму флавоноидов с относительной погрешностью, не превышающей 2,5%.

Ключевые слова: флавоноиды, ива трехтычинковая (*Salix triandra* L.), побеги, листья, спектрофотометрия

Введение. Флавоноиды – фенольные соединения, представляющие чаще всего различные производные фенилхромана или фенилхромона, найдены почти во всех частях высших растений в виде гликозидов и/или агликонов. Качественный их состав и количественное содержание зависит от семейства и вида растения [1]. Работами В.А. Компанцева показано, что растения рода ива богаты наличием раз-

differential spectrophotometry were used to study chemical reactions.

Results. The presence of flavonoids in various vegetative plant organs was established using qualitative reactions (cyanidin test; boric-citric reaction; the reaction with solution of lead acetate and solution of ammonia). Rutin and quercetin flavonoids in the presence of standard samples were identified using TLC. the method of differential spectrophotometry, based on the reaction of flavonoids with aluminum chloride was used for the quantitative determination of the amount of flavonoids. It is shown that the greatest quantity of flavonoids amount accumulated in the leaves (up to 3.76%), its value in branches is slightly smaller (up to 3.26%). The branches without leaves have almost 10 times less flavonoids. It was established experimentally that the accumulation of flavonoids in raw material of *Salix triandra* is dependent on the place and time of raw materials gathering.

Conclusion. The results confirmed the previously obtained information about the fact that *Salix triandra* mainly contains rutin. The method of differential spectrophotometry allows determining the amount of flavonoids with a relative error not exceeding 2.5%.

Keywords: flavonoids, willow triandra (*Salix triandra* L.), branches, leaves, spectrophotometry

Introduction. Flavonoids are phenolic compounds, which often consist of phenylchromon or phenylchroman found in all parts of higher plants as glycosides and/or aglycones. Their qualitative composition and quantitative content depends on the family and the species [1]. The works of V. A. Kompantsev shown that plants of the *Salix* genus are rich in various flavonoids. They found that leaves of *Salix triandra*

личных флавоноидов. Им найдено, что в листьях ивы трехтычинковой содержится до 5% рутина, в коре - салипурпозид и нарингенин (около 1,5%), в соцветиях - рутин и кверцетин (около 1,5%) [2,3].

Количественное определение рутина в листьях ивы трехтычинковой (*Salix triandra* L.) проводилось в 60-е годы XX века спектрофотометрическим методом, который в то время требовал длительной пробоподготовки (извлечение из сырья, ТСХ, извлечение из хроматографического слоя метанолом, удаление растворителя, растворение в этаноле, измерение оптической плотности). Параллельно в этих же условиях проводилось определение оптической плотности рутина [3]. В настоящее время описаны доступные и простые методы определения рутина в растительном сырье. Так в коре ивы трехтычинковой методом дифференциальной спектрофотометрии найдено 0,41% суммы флавоноидов в пересчете на рутин [4]. Однако в листьях и побегах ивы трехтычинковой до настоящего времени такие определения не проводились. Учитывая, что листья ивы трехтычинковой содержат значительные количества рутина и могут служить потенциальным сырьем для создания лекарственных средств на их основе, актуальным является определение суммы флавоноидов в листьях ивы трехтычинковой и ее побегах [5].

Целью настоящего исследования является определение суммы флавоноидов, в иве трехтычинковой, произрастающей на Северном Кавказе в зависимости от места и времени сбора.

Методы. Объекты исследования – однолетние облиственные, недревесневшие длиной до 30 см побеги ивы трехтычинковой, произрастающей на Северном Кавказе, собранные по берегам рек Подкумок (г. Пятигорск, Ставропольский край), Малка (Кабардино-Балкарская Республика), Кубань (Кочубеевский район Ставропольского края). Сырье собирали в разные стадии вегетации в 2013 - 2015 годах в период с 20 по 30 число каждого месяца. В даль-

contain up to 5% of rutin, in the cortex - salipurpozid and naringenin (about 1.5%) in the inflorescence of rutin and quercetin (about 1.5%) [2, 3].

Quantitative determination of rutin in the leaves of willow triandra (*Salix triandra* L.) was conducted in 1960s using spectrophotometry, which at that time required a long sample preparation (extraction of the raw material using TLC, the chromatographic layer extraction with methanol, removal of the solvent, dissolution in ethanol, optical density measurements). In parallel, in the same conditions, was used to determine optical density of the reference standard (RS) rutin [3]. Currently describes the available and simple methods for the determination of rutin in plant material. So in the cortex of the willow triandra by differential spectrophotometry found 0.41% of total flavonoids based on the rutin [4]. However, in the leaves and branches of willow triandra to date, such definitions have not been conducted. Given that leaves of willow triandra contain significant amounts of rutin and can be a potential raw material for the creation of medicines on their basis, it is essential to determine the amount of flavonoids in the leaves of willow triandra and its branches [5].

The purpose of this study is the determination of the amount of flavonoids in the *Salix triandra*, which grows in the North Caucasus, depending on the place and time of its collection.

Methods. Leafy annual, not lignified up to 30 cm branches of willow triandra, growing in the North Caucasus, collected on the banks of the Podkumok river (Pyatigorsk, Stavropol Krai), Malka river (Kabardino-Balkarian Republic), Kuban river (Kochubeevsky region, Stavropol Krai) were the objects of the research. The raw materials were collected in different stages of the growing season in 2013, 2014 and 2015 from 20 to 30 of each month. Further,

нейшем проводили сравнение содержания флавоноидов в побегах, а также в листьях и побегах без листьев по отдельности.

Получение извлечения для идентификации флавоноидов: к 1,0 г сырья добавляли 20 мл спирта этилового 70% и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 30 минут. Извлечение охлаждали до комнатной температуры, фильтровали и проводили следующие реакции: цианидиновая проба; борно-лимонная реакция; реакции с раствором ацетата свинца и раствором аммиака [6]. Качественный анализ флавоноидов проводили методом ТСХ в традиционно применяемой системе растворителей н-бутанол: кислота уксусная концентрированная: вода (4: 1: 2) [1]. На пластинку «Сорбфил» наносили по 15 мкл спиртовых извлечений побегов, листьев и побегов без листьев и по 5 мкл 0,05% спиртовых растворов образцов СО. Пластинки помещали в камеру, насыщенную системой растворителей в течение 1 часа. Когда фронт растворителя достигал 12 см, хроматограммы доставали из камеры, высушивали, просматривали в видимом и УФ-свете при длине волны 365 нм. Идентификацию веществ проводили с помощью обработки парами аммиака или 2% раствором алюминия хлорида.

Для количественного определения суммы флавоноидов была использована методика дифференциальной спектрофотометрии, основанная на реакции флавоноидов с алюминия хлоридом [7]: 1,0 г сырья (точная навеска) помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 30 мл спирта этилового 70% и проводили экстракцию на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 минут с момента закипания смеси. Горячий раствор фильтровали через ватный тампон в мерную колбу вместимостью 100 мл, помещая затем ватный тампон в колбу с сырьем. Экстрагирование проводили еще дважды. Раствор охлаждали при комнатной температуре, филь-

we compared the content of flavonoids in the branches and in leaves and branches without leaves separately.

Determination of flavonoids. Obtaining extraction for identification of flavonoids: The raw material (equals 1.0 g) was placed in a conical flask, then added 20 ml of ethanol (70%). Then the flask was connected with reflux condenser, placed in a boiling water bath and since that moment heated for 30 min. The obtained extract was cooled, filtered through a paper filter and then we carried out the following reactions: cyanidin test; boric-citric reaction; the reaction with solution of lead acetate and solution of ammonia [6]. We used thin-layer chromatography for identification. For the mobile phase we used n-butanol-glacial acetic acid-water system (4:1:2). [1]. On the plate "Sorbfil" we put on the start line (on the side 15 cm width) samples of alcoholic Salix extract from branches, leaves and branches without leaves on 15 μ l and samples of alcoholic reference standards on 5 μ l (0.05%). The plates were placed in chromatography chamber. When the solvent front reaches the 12 cm the plate was removed, dried in a laboratory fume hood at r.t., viewed in visible and ultraviolet light at a wavelength of 365 nm. The substances detection was performed with ammonia vapors or 2% solution of aluminum chloride.

For the quantitative determination the amount of flavonoids we used the method of differential spectrophotometry, based on the reaction of flavonoids with aluminum chloride [7]: the raw material (equals 1.0 g) was placed in a 100 ml conical flask, then added 30 ml of ethanol (70%) then the flask was connected with reflux condenser, placed in a boiling water bath and since that moment heated for 30 minutes. The hot extract obtained was filtered through a cotton swab into volumetric 100 ml flask, then placing the cotton swab into the jar with the raw material. Extraction was carried out

тровали через бумажный фильтр «синяя лента» в ту же колбу и доводили до метки спиртом этиловым 70%. При необходимости извлечение повторно фильтровали (раствор А). 2 мл раствора А помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 10 мл спирта этилового 95% и 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2%. Через 10 минут прибавляли 0,1 мл уксусной кислоты разведенной и доводили до метки спиртом этиловым 95%. По истечении 40 минут измеряли оптическую плотность на спектрофотометре СФ-2000 при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 2 мл соответствующего извлечения, 0,1 мл уксусной кислоты разведенной и доведенный спиртом этиловым 95% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. Параллельно измеряли оптическую плотность раствора стандартного образца рутина, для чего в две мерные колбы вместимостью 25 мл вносили по 1 мл 0,05% спиртового раствора рутина и далее поступали, как описано выше. Содержание суммы флавоноидов вычисляли в пересчете на рутин.

Валидационную оценку методики количественного определения флавоноидов проводили в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» [8]. Для построения градуировочного графика отбирали по 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 и 3,5 мл из раствора А (см. методику) и помещали в мерные колбы вместимостью 25 мл, далее поступали, как описано в методике. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин определяли в конкретной аликвоте в г/мл. По полученным данным рассчитывали коэффициент и свободный член уравнения регрессии в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» [9].

Результаты. Положительные результаты вышеперечисленных реакций сви-

twice. The solution was cooled at ambient temperature, filtering through a paper filter “blue tape” in the same flask, adjusted with alcohol to the mark., The re-extraction was filtered if necessary (solution A). 2 ml of solution A was placed in a 25 ml volumetric flask, add 10 ml of ethanol (95%) and 2 ml of alcoholic solution aluminium chloride (2%). After 10 minutes, was added 0.1 ml of acetic acid diluted and adjusted with alcohol (95%) to the mark. After 40 minutes, measured optical density in a cuvette with a layer thickness of 10 mm at SF-2000 spectrophotometer at a wavelength of 410 nm. The solution was used as a reference solution consisting of 2 ml of the appropriate extraction, 0.1 ml of acetic acid diluted and adjusted with alcohol (95%) to the mark in 25 ml volumetric flask. In parallel, measured optical density of the reference standard rutin. 1 ml (0.05%) alcoholic solution of rutin was placed in a 2 volumetric flask (25 ml), further we received as described above. The content of flavonoids amount was calculated as rutin.

Validation of assessment methods for the quantitative determination of flavonoids was carried out in accordance with the requirements of the General Pharmacopoeia article.1.1.0012.15 “Validation of analytical procedures”[8]. For construction of the calibration curve were selected 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 and 3.5 ml of solution A (see methodology) and placed in a 25 ml volumetric flask was imported as described in the method. The content the amount of flavonoids based on the rutin defined in a specific aliquot in g/ml. According to the data obtained, we calculated the coefficient and free term of the regression equation in accordance with the requirements of the General Pharmacopoeia article.1.1.0013.15 “Statistical processing of results of chemical experiment” [9].

Results. The positive results of the following reactions indicate the presence of

детельствуют о присутствии флавоноидов (табл.1). С помощью метода ТСХ нами подтверждено, что в листьях, побегах и побегах без листьев содержится рутин (на хроматограмме просматривалось яркое пятно на уровне пятна СО рутина), кроме рутина наблюдалось слабо окрашенное пятно на уровне пятна СО кверцетина, однако в побегах без листьев пятно кверцетина не наблюдалось.

flavonoids (see table 1). Using thin-layer chromatography, we confirmed that leaves, branches and branches without leaves contain (on the chromatogram looked through the bright stain at the stain RS of rutin), rutin was also observed weakly colored stain at the stain RS of quercetin, but in the branches without leaves the stain of quercetin was observed.

**Таблица 1 – Идентификация флавоноидов в иве трехтычинковой /
Table 1 – Identification of flavonoids in the willow triandra**

Метод обнаружения/ Detection method	Побеги/Branches	Листья/Leaves	Побеги без листьев/ Branches without leaves
Цианидиновая проба/ Cyanidin test	красное окрашивание/ Red coloration	красное окрашивание/ Red coloration	бледно-красное окрашивание/ Pale red coloration
<i>Борно-лимонная реакция/ Boric-citric reaction</i>	ярко-желтое окрашивание/Bright yellow coloration	ярко-желтое окрашивание/ Bright yellow coloration	желтоватое окрашивание/ Yellowish coloration
<i>Реакция с раствором ацетата свинца/ The reaction with solution of lead acetate</i>	желтоватый осадок/ Yellowish precipitate	желтоватый осадок/ Yellowish precipitate	слабо-желтоватый осадок/Slightly yellowish precipitate
<i>Реакция с раствором аммиака/ The reaction with ammonia solution</i>	темно-бурая окраска/ Dark brown colouration	темно-бурая окраска/ Dark brown colouration	бурая окраска/ Brown colouration
ТСХ/ TLC	рутин R _f 0,64-0,66; кверцетин R _f 0,81- 0,89/ R _f = 0.64-0.66 (rutin), R _f = 0,81-0,89 (quercetin)	рутин R _f 0,64-0,66; кверцетин R _f 0,81- 0,89/ R _f = 0.64-0.66 (rutin), R _f = 0.81-0.89 (quercetin)	рутин R _f 0,64-0,66/ R _f = 0.64-0.66 (rutin)

Далее, используя дифференциальную спектрофотометрическую методику, принятую ГФ 13 издания (2015 г.) для определения суммы флавоноидов в лекарственном растительном сырье, определяли сумму флавоноидов в листьях, побегах и побегах без листьев ивы трехтычинковой. Учитывая, что во всех исследуемых образцах содержался рутин и максимум поглощения растворов исследуемых образцов находился в области максимума поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом – 410–412 нм содержание суммы в пересчете на рутин.

Further, using a differential spectrophotometric methodology adopted in SP XIII edition (2015) to determine the amount of flavonoids in medicinal plant in the raw materials, we determined the amount of flavonoids in the leaves, branches and branches without leaves of willow triandra. Given that all the samples contained rutin while the absorption maximum of the solutions of the samples was located in the region of maximum absorption of the complex of rutin with aluminum chloride – 410 - 412 nm, the content of the amount of flavonoids was calculated in terms of rutin.

Ввиду того, что данная методика для определения суммы флавоноидов ивы трехтычинковой используется впервые, нами предварительно была проведена валидация методики по критериям: специфичность, прецизионность, линейность и правильность (табл. 2) на примере определения суммы флавоноидов в побегах ивы трехтычинковой, собранных в сентябре 2013 года.

Since this method to determine the amount of flavonoids of *Salix triandra* is used for the first time, we have previously been carried out validation of methodology according to the criteria: specificity, precision, linearity and accuracy (see table 2) on the example of the amount of flavonoids in branches of willow triandra, collected in September 2013.

**Таблица 2 – Результаты валидационной оценки методики количественного определения суммы флавоноидов в побегах ивы трехтычинковой /
Table 2 – Results of validation assessment methods of quantitative determination of the amount of flavonoids in branches of willow triandra**

Показатель/Index	Норматив/Standart	Результат/Result	Соответствие/Accordance
Специфичность/ Specificity	Совпадение максимума поглощения извлечения из сырья с максимумом поглощения раствора рутина с алюминия хлоридом / The coincidence of maximum absorption of extraction from raw materials with the maximum absorption of a solution of rutin with aluminium chloride	Максимум поглощения извлечения из сырья совпал с максимумом поглощения раствора рутина с алюминия хлоридом (412 нм) / The maximum absorption of an extract from raw material coincided with the maximum absorption of a solution of rutin with aluminium chloride (412 nm)	+
Линейность (коэффициент корреляции $ r $)/ Linearity (correlation coefficient $ r $)	0,99 \leq	0,994	+
Правильность (по градуировочному графику)/ Accuracy (the calibration curve)	значение коэффициента «b» должно стремиться к 0/ The value of coefficient “b” should tend to 0	$y=(374\pm 10)x+(0,002\pm ,014)$	+
Повторяемость $X\pm SD$ (n=6) (относительное стандартное отклонение RSD)/ Repeatability $X\pm SD$ (n=6) (the relative standard deviation RSD)	3%	2,016 \pm 0,051 2,48%	+

Для данной выборки значение коэффициента корреляции составило 0,994. Полученное уравнение позволяет сделать вывод о наличии линейной зависимости оптической плотности от концентрации флавоноидов в области концентраций от 0,0005 г/мл до 0,0026 г/мл. Правильность методики рассматривали как результат изучения линейности валидируемой методики: если свободный член в уравнении статистически достоверно не отличается от нуля, то использование такой методики дает результаты, свободные от систематической ошибки. Согласно статистической обработке полученного уравнения коэффициент «а» имеет доверительный интервал 374 ± 10 , а свободный член «b» значимо не отличается от нуля, т.к. его доверительный интервал намного больше этого значения и равен 0,014 ($0,002 \pm 0,014$). В виду того, что свободный член $b = 0$, уравнение принимает вид $y = (375 \pm 3)x$ и предлагаемая методика неотягощена систематической погрешностью [10].

Таким образом, на основании полученных результатов (табл. 2), можно сделать вывод о том, что применяемая методика является валидной по следующим характеристикам: специфичность, линейность, правильность и повторяемость.

Валидированная методика была использована для определения содержания суммы флавоноидов в побегах, листьях и побегах без листьев, собранных в 2013, 2014 и 2015 гг., в различное время и различных районах Северного Кавказа. Анализ проводился в год сбора сырья (табл. 3).

The value of the correlation coefficient for this sample amounted to 0.994. The equation obtained allows making a conclusion about existence of linear dependence of optical density on the concentration of flavonoids in the concentration range from 0.0005 g/ml to 0.0026 g/ml. Accuracy of methodology viewed as a result of the study of linear validation of methodology: if a free term in the equation are statistically not significantly different from zero, then the use of such a method gives results free from systematic errors. According to the statistical processing of the obtained equation the coefficient of “a” has confidence interval 374 ± 10 , and free term of “b” not significantly different from zero, because its confidence interval is much longer, and this value is equal to 0.014 (0.002 ± 0.014). Since the free term $b = 0$, the equation becomes $y = (375 \pm 3)x$ and the proposed method is not burdened with systematic error [10].

Thus, based on the obtained results (see table. 2), we can conclude that the procedure used is one of the common characteristics in the following: specificity, linearity, accuracy, and repeatability.

The validated method was used to determine the amount of flavonoids in the branches, leaves and branches without leaves, collected in 2013, 2014 and 2015, in different times and different parts of the North Caucasus. The analysis was conducted in the year of collection of raw materials (see table 3).

Таблица 3 – Количественное содержание суммы флавоноидов (%) в сырье ивы трехтычинковой (n=3)/**Table 3 – The quantitative content of the amount of flavonoids (%) in the raw material of willow triandra (n=3)**

	Время сбора сырья/ The time of collecting raw materials	Побеги/ Branches	Листья/ Leaves	Побеги без листьев/ Branches without leaves
Река Подкумок (г. Пятигорск)/ The river Podkumok (Pyatigorsk, Stavropol region)	2013 г. Сентябрь/ September, 2013	2,143±0,085	3,188±0,043	
Река Подкумок (г. Пятигорск)/ The river Podkumok (Pyatigorsk, Stavropol region)	2014 г. Май/ May, 2014	1,730±0,089	3,071±0,207	0,106±0,003
	2014 г. Июль/ July, 2014	2,750±0,075	2,922±0,027	0,196±0,009
	2014 г. Сентябрь/ September, 2014	2,801±0,033	3,231±0,200	0,320±0,052
Река Малка (КБР)/ The river Malka (Kabardino-Balkarian Republic)	2014 г. Июнь/ June, 2014	1,902±0,100	3,341±0,176	0,278±0,059
Река Кубань (Ставропольский край)/ The river Kuban (Kochubeevsky area, Stavropol region).	2014 г. Август/ August, 2014	3,266±0,062	3,676±0,211	0,249±0,027
Река Подкумок (г. Пятигорск)/ The river Podkumok (Pyatigorsk, Stavropol region)	2015 г. Май/ May, 2015	2,128±0,152	3,052±0,174	
	2015 г. Июнь/ June, 2015	2,334±0,112	2,660±0,125	
	2015 г. Июль/ July, 2015	2,354±0,104	3,100±0,138	
	2015 г. Август/ August, 2015	2,275±0,0142	2,791±0,124	
	2015 г. Сентябрь/ September, 2015	2,616±0,048	3,494±0,034	

Обсуждение. Таким образом, результаты таблицы 3 свидетельствуют, что наибольшее количество суммы флавоноидов накапливается в листьях (от 2,661% до 3,676%), в побегах – это значение немного меньше (от 1,73% до 3,26%). В побегах без листьев содержание флавоноидов почти в 10 раз меньше (от 0,117% до 3,266%). В связи с низким содержанием флавоноидов, в сырье, заготовленном в 2015 г., определение суммы флавоноидов

Discussion. Thus, the results of the table 3 suggest that the greatest amount of flavonoids accumulated in leaves (from 2.661% to 3.676%) in branches this value is slightly smaller (from 1.73% to 3.26%). The branches without leaves flavonoid content is almost 10 times lower (0.117% to 3.266%). Due to the low content of flavonoids in raw materials, of harvested in 2015, the amount of flavonoids in the branches without leaves was conducted. The analysis on the example

в побегах без листьев не проводилось. Проведенный анализ на примере сырья, заготовленного в пойме реки Подкумок в течение трех лет (сентябрь 2013, 2014 и 2015 гг.), позволяет сделать вывод, что содержание суммы флавоноидов в сырье ивы трехтычинковой, собранного в одном месте, но в разные годы подвергается незначительным изменениям (2,14; 2,80 и 2,61% в побегах и 3,19; 3,23 и 3,49% соответственно в листьях). Однако накопление флавоноидов в течение весны, лета и осени в различные годы сбора происходит не однозначно. Так, в 2014 году наибольшая сумма флавоноидов накапливалась летом, тогда, как в 2015 году она оказалась наибольшей осенью. Оказалось также, что содержание флавоноидов зависит от места сбора сырья, что также следует учитывать при заготовке в промышленных масштабах.

Заключение. При исследовании наличия флавоноидов в листьях и побегах ивы трехтычинковой, произрастающей на Северном Кавказе, найдено, что и листья, и побеги содержат флавоноиды: рутин и кверцетин.

Валидационная оценка спектрофотометрической методики определения суммы флавоноидов в сырье ивы трехтычинковой подтвердила ее применимость. Погрешность определения находится в пределах 2,5%. Найдено, что наибольшее количество суммы флавоноидов накапливается в листьях (от 2,6% до 3,7%), в побегах - это значение немного меньше (от 1,7% до 3,3%). В побегах без листьев содержание флавоноидов почти в 10 раз меньше (от 0,1% до 0,3%). Показано, что содержание флавоноидов зависит от места и времени сбора сырья.

Библиографический список

1. Клышев Л.К., Бандюкова В.А., Люкина Л.С. Флавоноиды растений. Алма-Ата: Наука, 1978. 220 с.
2. Компанцев В.А. Фенольные соедине-

of raw materials harvested of alluvial lands have Podkumok over three years (September 2013, 2014 and 2015), suggests that the content of amount of flavonoids in raw materials of willow triandra, assembled in one place, but in different years exposed minor changes (2.14%, 2.80% and 2.61% in the branches and 3.19%, 3.23% and 3.49%, respectively, in the leaves). However, the flavonoid accumulation during the spring, summer and autumn in different years of collection is ambiguous. So, in 2014, the highest amount of flavonoids was accumulated in summer, while in 2015 it was the highest in autumn. It was also, found that the content of flavonoids depends on the place of collection of raw materials that should also, be considered when harvesting on an industrial scale.

Conclusion. While studying the presence of flavonoids in the leaves and branches of *Salix triandra*, growing in the North Caucasus, we have found that the leaves and branches contain flavonoids: rutin and quercetin.

Validation assessment of spectrophotometric methods for determining the amount of flavonoids in raw materials of *Salix triandra* has confirmed the applicability. The error determination is within the range 2.5%. We found that the greatest quantity the amount of flavonoids accumulated in the leaves (from 2.6% to 3.7%), in the branches of this value is slightly smaller (from 1.7% to 3.3%). The branches without leaves the content of flavonoids is almost 10 times less (from 0.106% to 0.323%). It is shown, that the content of flavonoids is dependent on the place and time collecting of raw materials.

References

1. Klychev L. K., Bandyukova V. A., Lukina L. S. Flavonoids of plants. Alma-Ata: Science, 1978. 220 p.
2. Kompantsev V. A. Phenolic compounds

- ния ивы трехтычинковой // Тез докл.: науч. конф. молодых ученых Пятигорского фармацевтического института. – Пятигорск, 1973. – С. 28–29.
3. Компанцев, В.А. Получение фармпрепарата рутина из листьев ивы трехтычинковой / В.А. Компанцев, А.Л. Шинкаренко // Исследования по изысканию лекарственных средств природного происхождения: тез. докл. Всесоюз. науч. конф. – Л., 1981. – С.48.
 4. Компанцева, Е.В. Сравнительное фитохимическое изучение коры трех видов ивы, произрастающих на Северном Кавказе / Е.В. Компанцева, О.О. Хитева // Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы: материалы 8 Междунар. конф. 2–3 апр. 2010 г. – Минск, 2010. – Ч. 2. – С. 144–146.
 5. Компанцева Е.Г., Попова О.И. Геоботанические аспекты изучения некоторых видов растений рода *Salix* L. с целью обоснования их медицинского использования // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2014. – № 4. – С. 50–51.
 6. Химический анализ лекарственных растений // Под ред. Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич. – М.: Высш. шк., 1983. – С. 43.
 7. Дементьева Т.М., Компанцева Е.В., Айрапетова А.Ю., Фролова О.О. Флавоноиды коры и побегов ивы вавилонской и ее гибрида с ивой белой // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 2; URL: <http://www.science-education.ru/129-22217> (дата обращения: 16.10.2015).
 8. ОФС.1.1.0012.15. Валидация аналитических методик // Государственная фармакопея Российской Федерации: в 3-х т. – 13-е изд. – М., 2015. – Т.1 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_1/HTML/#222 (дата обращения: 27.12.2015).
 9. ОФС.1.1.0013.15. Статистическая обработка результатов химическо-
- of *Salix triandra*. Science Conference young scientists of the Pyatigorsk pharmaceutical Institute: theses of reports. Pyatigorsk, 1973. P. 28–29.
3. Kompantsev V. A., Shinkarenko A. L. Production of pharmaceutical rutin from the leaves of the *Salix triandra*. Research on finding herbal medicine in: theses of reports All-Union Scientific Conference. Leningrad, 1981. P. 48.
 4. Kompantseva E. V., Hiteva O.O. Comparative phytochemical study of the cortex of three species of willow, growing in the North Caucasus. Medical and social ecology of personality: a condition and prospects: materials 8 int. Conf. 2–3 April. 2010. Minsk, 2010. Part 2. P.144–146.
 5. Kompantseva E. G., Popova O.I. Geobotanical aspects of the study of some species of the genus *Salix* L. in order to support medical use. Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2014. № 4. P. 50–51.
 6. Chemical analysis of medicinal plants. ed. N.I. Grinkevich, L.N. Sofronich. Moscow, Higher school, 1983. P. 43.
 7. Dementievna T.M., Kompantseva E.V., Airapetova A.U., Frolova O.O. Flavonoids of the cortex and branches of the willow babylon and its hybrids with white willow. Modern problems of science and education, 2015, no. 2; URL: <http://www.science-education.ru/129-22217> (the date of circulation: 16.10.2015).
 8. Validation of analytical procedures (General Pharmacopoeia article.1.1.0012.15). USSR State Pharmacopoeia of the Russian Federation, III Vol.: I Vol. XIII edition. M., 2015 [Electronic resource]. Access mode: http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_1/HTML/#222 (the date of circulation: 12.27.2015).
 9. Statistical processing of results of chemical experiment (General Pharma-

го эксперимента)// Государственная фармакопея Российской Федерации: в 3-х т. – 13-е изд. – М., 2015 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_1/HTML/#222: (дата обращения: 27.12.2015).

10. Дерффель К. Статистика в аналитической химии. – М.: Мир, 1994. – 268 с.

* * *

Санникова Евгения Геннадиевна – заочный аспирант кафедры фармакогнозии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ Минздрава России. E-mail: je-je4ka2012@yandex.ru. Область научных интересов: фитохимическое изучение лекарственных растений.

Попова Ольга Ивановна – доктор фармацевтических наук, профессор, профессор кафедры фармакогнозии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ Минздрава России. E-mail: beegeeslover@mail.ru. Область научных интересов: фармакогностическое изучение лекарственных растений.

Фролова Ольга Олеговна – кандидат фармацевтических наук, ведущий специалист отдела аспирантуры и докторантуры Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: изучение биологически активных соединений лекарственного растительного сырья.

Айрапетова Ася Юрьевна – кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ Минздрава России. E-mail: asyapgfa@mail.ru. Область научных интересов: изучение биологически активных соединений лекарственного растительного сырья.

copoeia article.1.1.0013.15) // USSR State Pharmacopoeia of the Russian Federation, III Vol.: I Vol. – XIII edition. M., 2015 [Electronic resource]. Access mode: (the date of circulation: 27.12.2015).

10. Derfel K. Statistics in analytical chemistry. Moscow: World, 1994. 268 p.

* * *

Sannikova Evgenia Gennadievna – correspondence postgraduate student of the Department of pharmacognosy of Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russia. E-mail: je-je4ka2012@yandex.ru. Area of expertise: phytochemical study of medicinal plants.

Popova Olga Ivanovna – Doctor of Pharmacy, Professor, Professor of the Department of pharmacognosy of Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russia. E-mail: beegeeslover@mail.ru. Area of expertise: pharmacognostic study of medicinal plants.

Frolova Olga Olegovna – Candidate of Pharmacy, a leading expert department of post-graduate Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – a branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russia. Area of expertise: the study of biologically active compounds raw material of medicinal plants.

Ayrapetova Asya Yurievna – Candidate of Pharmacy, Docent, Docent of the Department of pharmaceutical and toxicological Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – a branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russia. E-mail: asyapgfa@mail.ru. Area of expertise: the study of biologically active compounds raw material of medicinal plants.